

Alliin ist in Wasser sehr leicht löslich, unlöslich in absolutem Alkohol, Chloroform, Azeton, Äther und Benzol. Eine verdünnte wässrige Lösung gibt mit Alloxan eine Rotfärbung und mit Ninhydrin eine positive Reaktion, die bis zu einer Verdünnung von 1:2000 noch erkennbar ist.

Eine wässrige Lösung des reinen Alliins erweist sich im Staphylokokken-Lochplattentest<sup>1</sup> im Gegensatz zu dem von CAVALLITO<sup>2</sup> aus Knoblauch nach der Enzymeinwirkung isolierten Allicin als unwirksam. Versetzt man aber die Alliinlösung mit einer aus Knoblauch her-

Alliin is characteristic for certain kinds of garlic; it contains sulphur and nitrogen and represents the initial substance of garlic oil. Alliin itself has no bactericidal action. Upon decomposition—caused by a specific concomitant enzyme, alliinase—the highly bactericidal substance, allicin, is produced. Further decomposition yields the volatile, sharply-odorous allyl-sulphides.

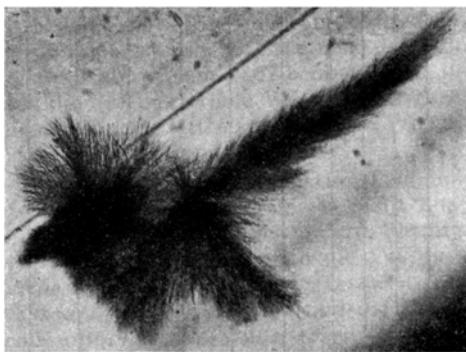


Fig. 1. Alliin aus verdünntem Alkohol (50fach vergrößert).

gestellten Fermentlösung, die an sich gegen Staphylokokken unwirksam ist, so tritt eine antibakterielle Wirkung auf, die derjenigen des Allicins gleicht; sie ist im sauren Milieu am stärksten und nimmt mit steigendem  $p_H$  ab. Das enzymatisch aus Alliin gebildete Spaltprodukt erwies sich auch gegenüber *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Eberthella typhosa* und *Bact. dysenteriae* E. als antibakteriell.

Mit der Spaltung von Alliin durch ein spezifisches Enzym, für das wir die Bezeichnung «Alliinase» vorschlagen, tritt ein immer intensiver werdender Geruch nach Knoblauch auf. Läßt man diese Lösung einige Tage bei 37° C stehen, so wird sie trübe und es scheiden sich ölige Tröpfchen ab, die im wesentlichen aus Diallyl-disulfid, dem Hauptbestandteil des Knoblauchöls, bestehen. Der Abbau geht demnach über das an sich unbeständige Allicin hinaus bis zu den flüchtigen, stark riechenden Verbindungen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß im Alliin die für gewisse *Allium*-arten charakteristische schwefel- und stickstoffhaltige Grundsubstanz nun in reiner Form vorliegt. Alliin selbst ist gegen Bakterien unwirksam; bei dessen Abbau durch ein spezifisches Begleitenzym (Alliinase) entsteht das antibakteriell stark wirksame Allicin, das durch weitere Zersetzung die flüchtigen, stark riechenden Allylsulfide liefert.

A. STOLL und E. SEEBECK

Chemisch-pharmazeutisches Laboratorium Sandoz, Bascl, den 10. Februar 1947.

#### Summary

The authors have succeeded in isolating alliin in a pure, crystalline form and in defining its properties.

<sup>1</sup> Die antibakterielle Wirksamkeit wurde von Dr. A. BRACK im Lochplattentest (Lochdurchmesser 13 mm, Fleischextrakt-Pepton-Agar, *Staphylococcus aureus* Stamm 114) nach FLEMING geprüft.

<sup>2</sup> Loc. cit.

#### Die antibakterielle Wirkung der Usninsäure auf Mykobakterien und andere Mikroorganismen

##### Fünfte Mitteilung über antibakterielle Stoffe<sup>1</sup>

In der vorangehenden Mitteilung wurde gezeigt, daß die Usninsäure von zahlreichen Flechtenarten gebildet wird und im wesentlichen für deren antibakterielle Wirksamkeit verantwortlich ist. Diese gelbfärbte Flechensäure ist bisher in der Natur stets in einer der beiden optisch aktiven Formen aufgefunden worden. Bei der Aufarbeitung einer größeren Menge von isländischem Moos (*Cetraria islandica* Ach.) konnten wir nun neben der *d*-Protolichesterinsäure auch die *razemische Usninsäure* als interessantes Nebenprodukt in geringer Menge isolieren. Die *l*- und die *d*-Usninsäure zeigen sehr hohe optische Drehwerte. Da allen aus dieser Flechte isolierten Präparaten die optische Aktivität hingegen fehlt und eine Razemisierung während der Isolierung unwahrscheinlich ist, so scheint im isländischen Moos ein Gemisch gleicher Mengen von *l*- und *d*-Usninsäure, also die razemische Form, als Naturprodukt vorzuliegen.

Im übrigen kommen die Usninsäuren in den Flechten in sehr unterschiedlichen Mengen vor. Die folgende Zusammenstellung zeigt den Gehalt an Usninsäure, bezogen auf Trockensubstanz einiger von uns untersuchter Flechten (Tabelle I).

Tabelle I  
Gehalt verschiedener Flechten an Usninsäure

Flechtenart	Prozente Usninsäure, bezogen auf Trockensubstanz der Flechte
<i>Evernia divaricata</i> Ach. . . . .	0,50 ( <i>d</i> -Usninsäure)
<i>Cladonia rangiferina</i> Web. . . . .	0,55 ..
<i>Cladonia mitis</i> Sandst. . . . .	0,60 ..
<i>Ramalina capitata</i> Nyl. . . . .	0,60 ..
<i>Usnea dasypoga</i> Röhl. . . . .	1,15 ..
<i>Usnea hirta</i> Wigg. . . . .	1,50 ..
<i>Usnea florida</i> Wigg. . . . .	1,80 ..
<i>Cladonia amaurocraea</i> Schaefer.	0,22 ( <i>l</i> -Usninsäure)
<i>Cetraria pinastri</i> Röhl. . . . .	0,55 ..
<i>Cetraria cucullata</i> Ach. . . . .	0,70 ..
<i>Cladonia deformis</i> Hoffm. . . . .	1,00 ..
<i>Cetraria nivalis</i> Ach. . . . .	2,75 ..
<i>Alectoria ochroleuca</i> Ach. . . . .	4,00 ..
<i>Alectoria ochroleuca</i> Ach. (auf Urgestein) . . . . .	8,00 ..
<i>Cetraria islandica</i> Ach. . . . .	0,04 ( <i>d, l</i> -Usninsäure)

<sup>1</sup> Vierte Mitteilung, siehe vorstehend S. 111.

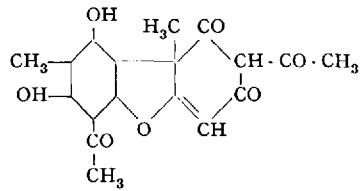
Tabelle II

Antibakterielle Wirkung des Na-Salzes der *l*-Usninsäure *in vitro* bei verschiedenen Konzentrationen

Testorganismus	1: 2500	1: 4000	1: 6400	1: 10000	1: 16000	1: 25000	1: 40000	1: 64000	1: 80000	1: 100000	1: 125000	1: 160000	1: 200000	1: 250000	1: 320000	1: 400000	1: 500000	1: 640000	1: 800000	1: 1:1000000	1: 2000000	
<i>Mycobact. tuberculosis hominis</i> Stamm «Betge» (Berlin) .																						
<i>Mycobact. tuberculosis hominis</i> Stamm «Bern 13» . . . .																						
<i>Mycobact. tuberculosis hominis</i> Stamm «Davos S 9/35» . .																						
<i>Mycobact. tuberculosis bovis</i> Stamm «Tb. 8» (Prigge) .																						
<i>Mycobact. tuberculosis bovis</i> Stamm «B. van Deinse I» (Paris) . . . . .																						
<i>Mycobact. tuberculosis avium</i> Stamm «Av. Bern» . . . .																						
<i>Mycobact. phlei</i> Stamm «Timothee ETH» (Zürich) . . . . .																						
<i>Mycobact. smegmatis</i> Stamm ETH (Zürich) . .																						
<i>Staphylococcus aureus</i> Stamm 114 . . . . .																						
<i>Streptococcus pyogenes</i> Stamm 110 . . . . .																						
<i>Escherichia coli</i> Stamm 511 . . . . .	++	++	++	++	++	++																++
<i>Eberthella typhosa</i> Stamm 113 . . . . .	++	++	++	++	++	++																++
<i>Bact. dysenteriae</i> E Stamm 115 . . . . .	++	++	++	++	++	++																++
Bierhefe, Stamm H. . . . .	+	+	+	+	+	++																++
<i>Penicillium notatum</i> Stamm 852 . . . . .	+	+	+	+	+	++																++

- Kein Wachstum bei allen Versuchsansätzen. ± Bei einem Teil der Ansätze kein Wachstum, beim andern Teil deutlich gehemmtes Wachstum.  
+ Deutlich gehemmtes Wachstum bei allen Ansätzen. ++ Keine Hemmung, Wachstum wie bei der Kontrolle.

Die Konstitution der Usninsäure ist noch nicht in allen Teilen sichergestellt. Nach den neuesten Untersuchungen kommt ihr folgende Formel zu<sup>1</sup>:



Die Usninsäuren schmelzen zwischen 195° und 205° C (korr.), die razemische Form bei 195° C. Charakteristisch für die optisch aktiven Formen ist der hohe Drehwert:  $[\alpha]_D^{20} = 480^\circ$  bis  $490^\circ$  (in Chloroformlösung,  $c = 1$ ).

Die antibakterielle Wirksamkeit der Usninsäuren wurde sowohl im Plattentest als auch im Verdünnungsversuch festgestellt. Aus einem umfangreichen Versuchsmaterial haben wir für die vorliegende Mitteilung

als Beispiel die *l*-Usninsäure herausgegriffen; ihre wachstumshemmende Wirkung auf verschiedene Bakterienstämme geht aus der Tabelle II hervor.

Die Prüfung gegenüber *Mykobakterien* wurde im Wachstumsversuch auf synthetischer Nährlösung ausgeführt, wobei die endgültige Ablesung der Resultate jeweils nach 28–35 Tagen vorgenommen wurde. In der Tabelle II sind bei jedem Stamm die Befunde aus 4 bis 8 Versuchsansätzen berücksichtigt<sup>1</sup>.

Die Versuche mit den übrigen geprüften Stämmen (grampositive Kokken und gramnegative Bakterien) wurden in Bouillon angesetzt mit Ablesung nach 24 Stunden, bei Hefe und *Penicillium* nach 2 bzw. 6 Tagen.

Aus der Tabelle II geht hervor, daß die *l*-Usninsäure nicht nur das Wachstum von Staphylokokken und Streptokokken in recht hoher Verdünnung (1:100 000) noch vollständig hemmt, sondern daß sie eine in den meisten Fällen noch intensivere Wirkung gegenüber Vertretern der Säurefesten, vor allem gegenüber Tuberkelbakterien, ausübt.

<sup>1</sup> Die Technik der Versuchsanordnung wird im Zusammenhang mit der ausführlichen Publikation eingehend beschrieben werden.

1 F. H. CURD und A. ROBERTSON, J. chem. Soc. 894 (1937). Siehe ferner CL. SCHÖPF und Fr. ROSS, Liebigs Ann. 546, 1 (1941).

Sowohl bei humanen wie bei bovinen pathogenen Tuberkelbakterienstämmen finden wir mit nur einer Ausnahme die total wachstumshemmenden Konzentrationen bei 1:320 000 bis 1:800 000. Diese Wirkung scheint ziemlich spezifisch zu sein. Gramnegative Bakterien der Koli-, Typhus-, Dysenteriegruppe sowie auch die Hefe und ein *Penicillium*-stamm werden selbst in hohen Konzentrationen (1:2500) durch *l*-Usninsäure in ihrem Wachstum nicht gehemmt.

Ganz ähnlich wie die *l*-Usninsäure verhält sich ihr optischer Antipode, die *d*-Usninsäure, sowie die razemische *d,l*-Usninsäure. Die wachstumshemmenden Konzentrationen bewegen sich innerhalb der gleichen Größenordnung. Bei einigen Stämmen der Säurefesten sind kleine Unterschiede zu beobachten; in diesen Fällen lag die antibakterielle Wirkung der razemischen *d,l*-Usninsäure in der Mitte zwischen den Wirkungen der beiden optischen Antipoden.

Eine ähnliche, spezifisch wachstumshemmende Wirkung auf Mykobakterien haben wir nicht nur bei den Usninsäuren, sondern auch bei andern Flechtenstoffen gefunden. Wir haben bisher noch die *Vulpinsäure*, die *d-Protolichesterinsäure*, die *Lichesterinsäure*, die *Dihydrolichesterinsäure*, die *Physodsäure* und die *Diffractasäure* eingehend untersucht; sie alle zeigen eine mehr oder weniger starke Hemmung des Wachstums bei Mykobakterien und grampositiven Kokken.

Unsere vor drei Jahren begonnenen Untersuchungen über die antibakterielle Wirkung von Flechtenäuren auf Mykobakterien haben in letzter Zeit eine wertvolle Ergänzung erfahren durch die Beobachtung von V. DE BARRY<sup>1</sup>, der mitteilte, daß die chlorhaltige Flechtenäure Diploicin gegenüber einem Tuberkelbakterienstamm *in vitro* als wirksam befunden worden war.

A. STOLL, A. BRACK und J. RENZ

Chemisch-pharmazeutisches Laboratorium «Sandoz»,  
Basel, den 10. Februar 1947.

#### Summary

Usnic acid has already been found in optically active forms in very different quantities in a large number of species of lichens. We have been able to demonstrate the presence of the racemic form of usnic acid as a naturally occurring product in Iceland moss (*Cetraria islandica* Ach.). The bacteriological examination of the three forms of usnic acid led to the result that, besides an effect upon *Staphylococcus aureus*, they exert also a very remarkable action against *Mycobacteria*. The action of *l*-usnic acid on different strains of *Mycobacteria* and other microorganisms is shown in table II. According to the results so far obtained by us, other acids of lichens behave in a similar manner.

<sup>1</sup> V. DE BARRY, Nature (Brit.) 158, 131 (1946).

#### Technique pour l'étude des propriétés vasoconstrictrices du sang veineux rénal

Depuis les expériences fondamentales de H. GOLDBLATT, J. LYNCH, R. F. HANZAL et W. W. SUMMERTON<sup>1</sup>, qui ont mis en évidence les effets hypertenseurs de l'ischémie rénale, de nombreux auteurs se sont at-

<sup>1</sup> H. GOLDBLATT, J. LYNCH, R. F. HANZAL et W. W. SUMMERTON, J. exper. Med. 59, 347 (1934).

tachés à l'étude des rapports du rein avec l'hypertension. Comme l'hypertension par ischémie rénale se produit encore après énervation du rein<sup>1</sup> et après sympathectomie bilatérale<sup>2</sup>, on en conclut qu'elle est due à la présence, dans l'organisme, d'une substance vasoconstrictrice d'origine rénale, agissant directement sur la périphérie vasculaire. A l'appui de cette conception, on peut encore faire valoir qu'au cours de l'ischémie rénale, des propriétés vasoconstrictrices furent reconnues dans le sang provenant de la veine rénale<sup>3</sup>, alors que ces propriétés font défaut dans le sang de l'artère fémorale<sup>4</sup>, ceci probablement à cause de la forte dilution subie par la substance rénale lors de son passage dans la circulation générale. A la base du principe hypertenseur se trouverait la «rénine», produite dans le rein (d'après N. GOORMAGHTIGH, elle aurait son origine dans les

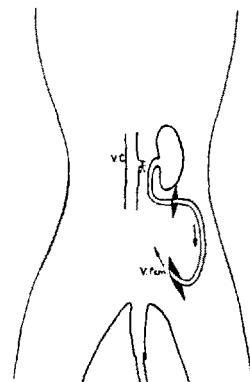


Fig. 1.

cellules afibrillaires<sup>5</sup>); cette «rénine» se combinerait avec une globuline du plasma et donnerait naissance à une substance appellée «angiotonine» par PAGE et ses collaborateurs, et «hypertensine» par HOUSSAY et son école.

Depuis quelques années, certains auteurs tendent à admettre que le principe vasoconstricteur produit par le rein ne serait pas seulement sécrété dans des conditions pathologiques d'ischémie rénale s'accompagnant d'hypertension, mais participerait également à la régulation de la pression artérielle générale comme une véritable hormone<sup>6</sup>. Il nous a semblé intéressant d'examiner expérimentalement si le rein peut être considéré comme une véritable glande à sécrétion interne intervenant dans l'homéostasie de la pression artérielle, et, dans ce but, nous avons mis au point la technique suivante (voir schéma): chez un chien, anesthésié à la morphine-chloralosane, nous prélevons au cou les deux

<sup>1</sup> I. H. PAGE, Amer. J. Physiol. 112, 166 (1935). — D. A. COLLINS, Amer. J. Physiol. 116, 616 (1936). — L. ELAUT, C. r. Soc. Biol. 123, 1244 (1936).

<sup>2</sup> C. HEYMANS, J. J. BOUCKAERT, L. ELAUT, F. BAYLESS et ADLI SAMAAN, C. r. Soc. Biol. 126, 434 (1937). — L. K. ALPERT, A. S. ALVING et K. S. GRIMSON, Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 57, 1 (1937). — N. E. FREEMAN et I. H. PAGE, Amer. Heart J. 14, 405 (1937).

<sup>3</sup> J. C. FASCIOLI, B. A. HOUSSAY et A. C. TAQUINI, J. Physiol. 94, 281 (1938).

<sup>4</sup> C. HEYMANS et J. J. BOUCKAERT, Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 59, 94 (1938).

<sup>5</sup> N. GOORMAGHTIGH, «La fonction endocrine des artéries rénales», R. Fonteyn, Louvain 1944.

<sup>6</sup> A. S. HAMILTON et D. A. COLLINS, Amer. J. Physiol. 136, 275 (1942). — F. HUIDOBRO et E. BRAUN-MENENDEZ, Amer. J. Physiol. 137, 47 (1942). — Voir également: A. T. CAMERON: «Recent advances in endocrinology», Churchill, Ltd., p. 400 (London 1945).